



Biopsias de protocolo: importancia de la vasculopatía del trasplante renal

D. Serón

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Bellvitge. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

La nefropatía crónica del trasplante (NCT) constituye la primera causa de pérdida del injerto después del primer año de seguimiento¹. Desde el punto de vista clínico se caracteriza por un deterioro progresivo de la función renal que habitualmente se acompaña de proteinuria y/o hipertensión arterial. Sin embargo, cuando se indica la biopsia para confirmar el diagnóstico de NCT, el grado de fibrosis renal es habitualmente muy severo, y por lo tanto, la probabilidad de retrasar la progresión hacia la insuficiencia renal en estadios tan avanzados de la enfermedad mediante una modificación del tratamiento es baja.

De acuerdo con los criterios de Banff², la NCT se caracteriza por la presencia de fibrosis intersticial y atrofia tubular y se clasifica como leve, moderada o severa de acuerdo con el área de la biopsia que presenta daño túbulo-intersticial crónico. Se distinguen dos tipos: la NCT (a) que se define como la presencia de daño túbulo-intersticial crónico en ausencia de vasculopatía del trasplante y la NCT tipo (b) que se caracteriza por la presencia de daño túbulo-intersticial crónico asociado a vasculopatía del trasplante. La vasculopatía del trasplante se caracteriza por el engrosamiento intimal y constituye el denominador común del rechazo crónico en los distintos órganos.

VASCULOPATÍA DEL TRASPLANTE EN EL INJERTO CARDÍACO

En el trasplante cardíaco se utiliza la biopsia endomiocárdica para diagnosticar de forma prospectiva la presencia de rechazo agudo. Sin embargo, debido a su pequeño tamaño, no es posible estudiar las arterias miocárdicas. En el trasplante renal, el tamaño de la biopsia es mayor y permite habitual-

mente la obtención de un promedio de 2 ó 3 secciones arteriales. En el trasplante cardíaco se estudia la vasculopatía del trasplante mediante técnicas de imagen de forma prospectiva. La prueba que más se ha utilizado es la coronariografía. Esta prueba estudia la vasculopatía del trasplante de forma indirecta ya que sólo permite ver la luz arterial. Como el engrosamiento intimal es más difuso en la vasculopatía del trasplante que en la arteriosclerosis del corazón nativo, esta exploración tiende a infravalorar la severidad de la vasculopatía del trasplante. Más recientemente se ha utilizado la ecografía intracoronaria (IVUS) que permite obtener una imagen nítida de cortes transversales de la arteria coronaria en la que se distingue la luz, la íntima y la muscular. El grosor intimal, se puede medir mediante técnicas morfométricas y la realización de IVUS seriados permite estudiar la progresión de la vasculopatía del trasplante, los factores asociados a esta progresión y la relación entre engrosamiento intimal y supervivencia del paciente trasplantado. En el trasplante cardíaco se ha demostrado que la vasculopatía del trasplante constituye la primera causa de mortalidad. El IVUS se ha utilizado como variable de eficacia primaria en ensayos clínicos y ha permitido demostrar que las estatinas, el diltiazem y distintos inmunosupresores previenen la progresión de la vasculopatía del trasplante³.

DIAGNÓSTICO PRECOZ DE LA NEFROPATÍA CRÓNICA DEL TRASPLANTE MEDIANTE BIOPSIAS DE PROTOCOLO

En distintos centros se han realizado biopsias de protocolo en pacientes con función renal estable con el fin de diagnosticar de forma precoz la NCT, caracterizar los factores de riesgo asociados a la presencia NCT y evaluar el valor predictivo de la NCT sobre la supervivencia del trasplante⁴⁻⁶. Se ha demostrado que la NCT es un hallazgo frecuente en pacientes con una evolución aparentemente favorable. Por ejemplo, nosotros hemos observado que en pacientes con una creatinina inferior a 200 $\mu\text{mol/l}$ y una proteinuria inferior a 1 g/24 horas, la prevalencia de NCT a los 3 meses de seguimiento era del

Correspondencia: Daniel Serón
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario de Bellvitge
Feixa Llarga, s/n.
08970 L'Hospitalet (Barcelona)
E-mail: 17664dsm@comb.es

40%⁷. Este resultado es consistente con otros estudios^{8,9}. Cuando se realizan biopsias seriadas, se ha documentado que la incidencia de NCT aumenta en función del tiempo. Al año del trasplante, aproximadamente el 55% de los pacientes presentan NCT y a los dos años prácticamente los dos tercios^{10,11}. Durante los primeros meses del trasplante, la NCT sin vasculopatía es entre 5 y 6 veces más frecuente que la NCT asociada a vasculopatía¹².

NCT EN BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y SUPERVIVENCIA DEL INJERTO

Uno de los hallazgos más consistentes en los estudios de biopsias de protocolo es la descripción de una asociación entre la presencia de NCT y la supervivencia del injerto^{4,5,7,9,12,13}. Sin embargo, se ha observado que la NCT asociada a vasculopatía del trasplante implica un pronóstico mucho peor que la NCT en ausencia de vasculopatía^{10,14}. En estos estudios se ha puesto de manifiesto que la NCT es un predictor independiente de otros parámetros clínicos que clásicamente se han considerado buenos predictores de la supervivencia del trasplante como pueden ser la presencia de rechazo, la creatinina en el momento de realizar la biopsia de protocolo o la proteinuria⁷⁻¹⁰. Este resultado implica que la biopsia contiene un tipo de información relevante para predecir el futuro del injerto que no está presente en los datos clínicos del paciente. Sin embargo, este resultado no debería sorprendernos, si tenemos en cuenta que en los pacientes con función renal estable apenas existe correlación entre la función renal y el daño estructural. Por ejemplo, en nuestro centro hemos medido el filtrado glomerular, flujo plasmático renal, reserva funcional renal tras la administración de una sobrecarga de aminoácidos y la reserva funcional renal después de la administración de una sobrecarga de aminoácidos junto con la infusión de dopamina en 32 pacientes en los que se practicó una biopsia de protocolo a los 4 meses. No se observó ninguna relación entre estos parámetros y la presencia o ausencia de NCT¹⁵. Esta falta de relación entre estructura y función en pacientes con buena función renal tiene fundamentalmente una explicación estadística, ya que en este caso, el rango de función renal y el rango de daño histológico es muy estrecho, en comparación con los estudios clásicos de correlación entre estructura y función en los que se incluían pacientes con función renal normal y pacientes con insuficiencia renal avanzada justo antes del inicio del tratamiento sustitutivo¹⁶.

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA NCT Y A LA VASCULOPATÍA DEL TRASPLANTE

Distintos factores de riesgo se han asociado a la presencia de NCT como son la edad del donante, rechazo agudo, toxicidad por ciclosporina, infección por citomegalovirus o el tiempo de isquemia fría^{7,9,11,12,17}. Sin embargo, al analizar de forma separada los factores de riesgo asociados a NCT con o sin vasculopatía, se ha observado que estos factores son distintos. Por ejemplo, en un estudio en el que se incluyeron aproximadamente 300 pacientes en los que se realizó una biopsia de protocolo a los 4 meses, se observó que mientras la edad del donante, presencia de rechazo agudo, el tiempo de isquemia fría y la exposición a la ciclosporina se asociaban a la presencia de NCT sin vasculopatía, la hipercolesterolemia era el único factor asociado a la presencia de NCT con vasculopatía¹². En un estudio posterior en el que se utilizó una técnica histomorfométrica para cuantificar la fracción de volumen intersticial y la fracción de volumen intimal, se estudió la evolución del daño renal mediante una biopsia del donante y una biopsia de protocolo realizada a los 4 meses. Se observó una asociación entre ensanchamiento del intersticio a los 4 meses y la superficie corporal del receptor así como con la presencia de necrosis tubular aguda postrasplante. En cambio, el tamaño de la íntima a los 4 meses dependía de la fracción de volumen de la íntima en la biopsia del donante, el grado de histocompatibilidad entre donante y receptor y la presencia de hipercolesterolemia en el receptor¹⁸. Otros autores han reportado datos similares. Por ejemplo, en un estudio en el que el daño vascular también se midió mediante una técnica morfométrica en biopsias del donante y biopsias de protocolo realizadas a los 18 meses, se observó que el tamaño de la íntima a los 18 meses dependía del tamaño de la íntima en la biopsia del donante, el número de episodios de rechazo agudo y el nivel de colesterol HDL¹⁹. En otro estudio en el que se incluyeron más de 100 biopsias de protocolo realizadas a los 3 meses, los factores asociados con la presencia de vasculopatía del trasplante fueron similares a los descritos: daño vascular preexistente en la biopsia del donante, presencia de rechazo vascular agudo antes de la biopsia de protocolo y tiempo de isquemia fría¹⁴.

EVALUACIÓN DE LA VASCULOPATÍA DEL TRASPLANTE EN BIOPSIAS DE PROTOCOLO

La estrecha relación existente entre la vasculopatía del trasplante y la supervivencia del injerto ha

estimulado la realización de estudios cuya finalidad es evaluar la reproducibilidad de la cuantificación del daño vascular crónico.

En un estudio de ámbito europeo, se estudió la reproducibilidad de 32 lesiones distintas en 55 biopsias del injerto renal^{20,21}. Para ello la misma biopsia fue evaluada ciegamente en 23 centros con larga experiencia en patología del trasplante renal. En este estudio se puso de manifiesto que la reproducibilidad de la vasculopatía del trasplante evaluada mediante los criterios de Banff era menor de lo que se pensaba. También se puso de manifiesto que existe disparidad de criterios para distinguir las arterias de las arteriolas. Estas observaciones han estimulado el estudio de la reproducibilidad de la evaluación morfológica del daño vascular crónico. En un estudio realizado por el grupo ESPRIT (European Study Group For Protocol Biopsies In Renal Transplantation), se estudió el grado de reproducibilidad de la estimación de la fracción de volumen intimal obtenida en dos centros europeos, Amberes y Barcelona. El interés de este estudio radica en el hecho de que la técnica morfológica y la tinción utilizada fueron distintas en ambos centros. En Amberes, el grosor de la íntima se estimó en biopsias teñidas con tricrómico de Masson mediante la utilización de un lápiz óptico, y en Barcelona, el grosor intimal se determinó en biopsias teñidas con plata-metamina y una técnica de conteo de puntos. A pesar de estas diferencias en el método utilizado, la reproducibilidad de la medida fue excelente aunque se describió la existencia de un discreto error sistemático, ya que el valor de la fracción de volumen intimal obtenido en Barcelona era superior al obtenido en Amberes²².

Estos resultados alentadores inspiraron un segundo trabajo en el que se estudió si la estimación de la fracción de volumen intimal en biopsias en las que no se ha observado la presencia de daño vascular crónico de acuerdo con los criterios de Banff, permite obtener información relevante desde el punto de vista clínico. Para ello se revisaron de forma retrospectiva 30 biopsias de protocolo realizadas en nuestro centro en las que no se hubiese observado la presencia de vasculopatía. En este estudio, las biopsias fueron evaluadas por 4 observadores, dos de ellos con larga experiencia en morfometría y los otros dos sin ninguna experiencia previa. Este diseño permitía no solo evaluar la concordancia entre observadores y las correlaciones anatómicas, sino que permitía responder a la pregunta de si es importante o no un entrenamiento previo con el fin de evaluar de forma precisa el daño vascular crónico. En este estudio, se demostró que existe concordancia en la evaluación de la fracción de

volumen intimal entre observadores experimentados a pesar de que las biopsias evaluadas no presentaban daño vascular crónico de acuerdo con el criterio del patólogo. También se demostró que es necesario un entrenamiento previo para cuantificar adecuadamente el grosor intimal. Sin embargo, el resultado más relevante fue la observación de una buena correlación entre el tamaño de la íntima y los parámetros clínicos siguientes: edad del donante, número de incompatibilidades HLA, creatinina y proteinuria en el momento de la biopsia así como la supervivencia del injerto. Este resultado confirma la utilidad de la fracción de volumen intimal como un parámetro determinante de la evolución del injerto incluso en pacientes que presentan daño intimal mínimo (datos no publicados).

EVOLUCIÓN DE LA VASCULOPATÍA DEL TRASPLANTE EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

En estudios de biopsias seriadas se ha documentado que la incidencia de vasculopatía del trasplante aumenta rápidamente durante los primeros 3-4 meses y mucho más lentamente a partir de este momento¹⁰. En estudios en los que se ha medido la fracción de volumen intersticial en biopsias seriadas, se ha observado que el ensanchamiento del intersticio progresa durante los primeros 6 meses para estabilizarse posteriormente²³. En un estudio realizado en nuestro centro, no solo se confirmó que la evolución temporal del daño intersticial progresa fundamentalmente durante los primeros 4 meses, sino que se observó que la fracción de volumen intimal arterial crece durante los primeros 4 meses de forma muy rápida y más lentamente a partir de este momento¹⁸.

LA VASCULOPATÍA DEL TRASPLANTE COMO UNA VARIABLE DE EFICACIA PRIMARIA EN LOS ENSAYOS CLÍNICOS

A principios de los 80, la supervivencia del injerto al año de seguimiento se utilizó como variable de eficacia primaria para demostrar la superioridad de la ciclosporina sobre la azatioprina²⁴. En la década de los 90, muchos ensayos clínicos utilizaron la incidencia de rechazo como variable de eficacia primaria²⁵. La mejoría sostenida de la supervivencia del injerto y la disminución de la tasa de rechazo ya no permiten utilizar estos parámetros como variables de eficacia primaria ya que el tamaño muestral mínimo para poner de manifiesto una diferencia entre grupos de tratamiento es demasiado grande.

De ahí la imperiosa necesidad de definir nuevas variables de eficacia primaria²⁶.

Si tenemos en cuenta que la vasculopatía del trasplante es un predictor independiente de la supervivencia del injerto, y que la progresión máxima del engrosamiento intimal ocurre durante los primeros 6 meses, se puede hipotetizar que la vasculopatía del trasplante evaluada mediante biopsias de protocolo puede constituir una variable de eficacia primaria en los ensayos clínicos cuya finalidad sea la prevención de la progresión de la vasculopatía del trasplante renal tal como se ha demostrado en el caso del trasplante cardíaco³. Ya que el tamaño muestral mínimo al realizar cálculos de poder estadístico depende de la precisión en la estimación de la variable de eficacia primaria, hemos estudiado la utilidad de la evaluación de la vasculopatía del trasplante en el diseño de ensayos clínicos evaluada mediante los criterios de Banff o mediante una técnica morfométrica. El tamaño muestral mínimo por grupo de tratamiento cuando se considera como variable de eficacia primaria la fracción de volumen intimal oscila entre 50 y 75 pacientes por grupo. En cambio, el número es mayor si se evalúa la vasculopatía del trasplante según los criterios de Banff.

CONCLUSIONES

Hoy en día existe un cuerpo de evidencia suficiente para sugerir que la evaluación de la vasculopatía del trasplante mediante una técnica morfométrica en biopsias de protocolo puede convertirse en una variable de eficacia primaria en los ensayos clínicos cuya finalidad sea la prevención de la progresión de la vasculopatía del trasplante.

BIBLIOGRAFÍA

- Briganti EM, Russ GR, McNeil JJ, Atkins R, Chadban SJ: Risk of renal allograft loss from recurrent glomerulonephritis. *N Engl J Med* 347: 103-109, 2002.
- Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, Croker BP, Demetris AJ, Drachenberg CB, Fogo AB, Furness P, Gaber LW, Gibson IW, Glotz D, Goldberg JC, Grande J, Halloran PF, Hansen HE, Hartley B, Hayry PJ, Hill CM, Hoffman EO, Hunsicker LG, Lindblad AS, Yamaguchi Y, y cols.: The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney International* 55: 713-23, 1999.
- Segovia J: Update on cardiac allograft vasculopathy. *Current Opinion in Organ Transplantation* 7: 240-251, 2002.
- Isoniemi HM, Krogerus L, Von Willebrand E, Taskinen E, Aho-nen J, Häyry P: Histopathological findings in well functioning long term renal allografts. *Kidney Int* 41: 155-160, 1992.
- Dimény E, Wahlberg J, Larsson E, Fellström B: Can histopathological findings in early renal allograft biopsies identify patients at risk for chronic vascular rejection? *Clin Transplant* 9: 79-84, 1995.
- Rush ND, Jeffery JR, Gough J: Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. *Transplantation* 50: 511-514, 1995.
- Serón D, Moreso F, Bover J, Condom E, Gil-Vernet S, Canas C, Fulladosa X, Torrás J, Carrera M, Grinyó JM, Alsina J: Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 51: 310-317, 1997.
- Legendre C, Thervet E, Skhiri H, Mamzer-Bruneel MF, Cantarovich F, Noel LH, Kreis H: Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 65: 1506-1509, 1998.
- Kuypers DRJ, Chapman JR, O'Connell PJ, Allen RDM, Nankivell BJ: Predictors of renal transplant histology at 3 months. *Transplantation* 67: 1222-1230, 1999.
- Serón D, Moreso F, Fulladosa X, Hueso M, Carrera M, Grinyó JM: Reliability of chronic allograft nephropathy diagnosis in sequential protocol biopsies. *Kidney Int* 61: 727-733, 2002.
- Solez K, Vincenti F, Filo RS: Histopathologic findings from 2 year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus Cyclosporine. *Transplantation* 66: 1736-1740, 1998.
- Serón D, Moreso F, Ramón JM, Hueso M, Condom E, Fulladosa X, Bover J, Gil-Vernet S, Castela AM, Alsina J, Grinyó JM: Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 69:1849-1855, 2000.
- Fulladosa X, Moreso F, Torrás J, Hueso M, Grinyó JM, Serón D: Structural and functional correlations in stable renal allografts. *Am J Kidney Dis* 41: 1065-1073: 2003.
- MacKensen-Haen S, Bader R, Grund KE, Bohle A: Correlations between renal cortical interstitial fibrosis, atrophy of the proximal tubules and impairment in the glomerular filtration rate. *Clin Nephrol* 15: 167-171, 1981.
- Yilmaz S, Tomlanovich S, Mathew T, Taskinen E, Paavonen T, Navarro M, Ramos E, Hooftman L, Häyry P: Protocol core needle biopsy and histologic chronic allograft damage index (CADI) as surrogate end point for long-term graft survival in multicenter studies. *J Am Soc Nephrol* 14: 773-779, 2003.
- Moreso F, López M, Vallejos A, Giordani C, Riera L, Fulladosa X, Hueso M, Alsina J, Grinyó JM, Serón D. Serial protocol biopsies to quantify the progression of chronic transplant nephropathy in stable renal allografts. *Am J Transplantation* 1: 82-88, 2001.
- Bosmans JL, Woestenburg A, Ysebaert DK, Chapelle T, Helbert MJ, Corthouts R, Jürgens A, Van Daele A, Van Marck EA, De Broe ME, Verpooten GA: Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for outcome of cadaveric renal allografts. *Transplantation* 69: 2388-2394, 2000.
- Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DRJ, Cheung E, Allen RDM, O'Connell PJ, Chapman JR: Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 71: 515-523, 2001.
- Furness PN, Taub N for the Convergence of European Renal Transplant Pathology Assessment Procedures (CERTPAP) Project: International variation in the interpretation of transplant renal biopsies: report of the CERTPAP Project. *Kidney Int* 60: 1998-2012, 2001.
- Furness PN, Taub N, Assmann KJM, Banfi G, Cosyns JP, Dorman AM, Hill CM, Kapper SK, Waldherr R, Laurinavicius A, Marcussen N, Martins AP, Nogueira M, Regele H, Serón D, Carrera M, Sund S, Taskinen EI, Paavonen T, Tihomirova T, Rosenthal R: International variation in histologic grading is large, and persistent feedback does not improve reproducibility. *J Am Surg Pathol* 27: 805-810, 2003.
- Bosmans JL, Moreso F, Mengel M, Serón D, Haller H, De Broe M: Reproducibility of the morphometric quantification

- of vascular lesions in renal allograft biopsies. Abstract presented at the 7th Banff meeting. Aberdeen 2003.
22. Nicholson ML, Bayley E, Williams S, Harris KPG, Furness PN: Computerized histomorphometric assessment of protocol renal transplant biopsies specimens for surrogate markers of chronic rejection. *Transplantation* 68: 236-241, 1999.
 23. Anonymus: A randomized clinical trial of cyclosporine in cadaveric renal transplantation. *N Engl J Med* 309: 809-815, 1983.
 24. Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, Groth C, Hooftman L, Barker C: Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients: a pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. The International Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Study Groups. *Transplantation* 63: 39-47, 1997.
 25. Hariharan S, McBride MA, Cohen EP: Evolution of endpoints for renal transplant outcome. *Am J Transplantation* 3: 933-941, 2003.